

氏 名	笹 岡 隆 一		
学 位 の 種 類	博 士 ( 医 学 )		
学 位 記 番 号	第 4575 号		
学位授与年月日	平成 16 年 3 月 31 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当者		
学 位 論 文 名	A prostanoid receptor EP4 agonist enhances ectopic bone formation induced by recombinant human bone morphogenetic protein-2 (プロスタグランジン E EP4 アゴニストは rhBMP-2 による骨形成作用を促進する)		
論文審査委員	主 査 教 授 高 岡 邦 夫	副主査 教 授 西 沢 良 記	
	副主査 教 授 岩 尾 洋		

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 【目的】

Recombinant human bone morphogenetic protein (以下; rhBMP - 2) は骨形成を誘導することが知られているが、単独使用での骨形成能は齧歯類と比較し、ヒトではその効果は弱い。臨床応用する場合には rhBMP - 2 の作用を増強する方法を開発することが必要である。

そこで、Prostaglandin E<sub>2</sub> receptor の subtype である EP4 の agonist (ONO - 4819) が骨形成の誘導に大きく関与していることに注目し、その投与量および時期によって、rhBMP - 2 による骨形成に与える影響を *in vivo* の実験系において明らかにする。

#### 【方法】

マウス傍脊柱筋々膜下に rhBMP - 2 を 5 $\mu$ g を含有したコラーゲンペレットを埋植。ONO - 4819 濃度別に (control)、10、30、100 $\mu$ g/kg の 4 群に分け、術直後より 8 時間毎に皮下注射を施行。術後 3 週で屠殺、骨化したペレットおよび脛骨を摘出し、軟 線撮影、骨塩定量 (BMC、BMD) を施行。術後 1、2、3 週の時点で血清 osteocalcin、Ca、P、総 ALP 活性を測定した。また投与時期別に ONO - 4819・30 $\mu$ g/kg を術前 1 週間、術直後から 1 週、術後 1 週から 2 週、術後 2 週から 3 週と 4 群に分け、同様に軟 線撮影、骨塩定量を施行した。

#### 【結果】

BMD (mg/cm<sup>2</sup>) は 30 $\mu$ g/kg 群 33.79  $\pm$  1.64、100 $\mu$ g/kg 群 30.61  $\pm$  1.92 であり、control 群 18.68  $\pm$  1.30 より有意に高値を示した。BMC (mg) についても同様であった。脛骨では BMD、BMC ともに各群間で差を認めなかった。血清 osteocalcin および総 ALP 活性については、30 $\mu$ g/kg 群の術後 2 週に有意な上昇を認めた。Ca、P については各群間で差を認めなかった。投与時期については 30 $\mu$ g/kg を術直後より 1 週間投与群において BMD (mg/cm<sup>2</sup>) 29.75  $\pm$  2.23 と control 群 18.68  $\pm$  1.30 より有意に高値を示した。BMC (mg) についても同様であった。

#### 【結論】

マウスを用いた実験系において、ONO - 4819 30 $\mu$ g/kg の 8 時間毎皮下投与は rhBMP-2 による骨形成を有意に促進させた。投与時期については、術直後からの投与が有効であった。また今回の投与量では全身骨代謝への影響は認めなかった。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

Recombinant human bone morphogenetic protein (以下; rhBMP - 2) は骨形成を誘導することが知られており、臨床応用されようとしている。しかし、ヒトではその骨誘導効果は弱い、その活性を増幅する方法が

望まれている。近年、Prostaglandin E<sub>2</sub> receptor の subtypeであるEP4の agonist (ONO - 4819) が骨形成促進効果を有することが報告された。この化合物がrhBMP - 2の骨誘導活性を促進する効果を探索し、投与量、骨形成過程での投与時期、さらに副作用を明らかにすることを目的とした。

rhBMP - 2を5μg含有したコラーゲンペレットをマウス傍脊柱筋々膜下に埋植。ONO - 4819を8時間間隔で3週間皮下投与した。マウスは4群 (n = 10 / 群) 分け各群に0 (control)、10、30、100μg/kgのONO - 4819を埋植直後より8時間間隔に皮下投与し3週で屠殺。rhBMP - 2埋植部に形成された異所性骨および脛骨を摘出し、軟 線撮影、骨塩定量 (BMC、BMD) で形成された骨量と骨密度を測定、埋植後1、2、3週時の血清osteocalcin、Ca、P、総ALP活性および体重を測定した。また投与時期については5群のマウスに (n = 10 / 群) rhBMP - 2埋植前1週間、埋植直後から1週間、埋植後1週から2週、埋植2週から3週にONO - 4819・30μg/kgを投与しcontrol群と比較、同様に軟 線撮影、骨塩定量を施行して投与時期による骨形成の差を観察した。

ONO - 4819投与量による効果：BMCは30μg/kg群 $21.57 \pm 4.13$  (mg) であり、control群 ( $7.91 \pm 1.27$ ) に比して有意に高値を示した。BMDは30μg/kg群および100μg/kg群がcontrol群に比して、有意に高値を示した。脛骨ではBMC、BMDともに各群間で差を認めなかった。血清osteocalcinおよび総ALP活性については、30μg/kg群の術後2週に有意な上昇を認めた。Ca、Pについては各群間で差を認めなかった。またONO - 4819投与群すべてにおいて、control群と比して有意に体重増加の抑制が認められた。ONO - 4819投与時期による効果：ONO - 4819 30μg/kgをBMP-2埋植直後の1週間投与群でBMC $16.51 \pm 3.24$  (mg) とcontrol群 ( $7.91 \pm 1.27$ ) より有意に高値を示した。BMDについても同様であった。

マウスを用いた実験系において、ONO - 4819 30μg/kgの8時間毎連続皮下投与でrhBMP - 2による骨形成を最も効果的に促進できた。ONO - 4819の投与時期については、rhBMP - 2埋植直後から1週間投与が有効であった。ONO - 4819の投与量に関わりなく、全身骨代謝への明らかな影響は認められなかった。

以上の研究は、主に骨腫瘍や外傷による広範囲骨欠損の補填材料として、臨床応用が期待されるrhBMP - 2の骨形成作用を促進させる方法を示した。よって本研究は博士(医学)の学位を授与されるに値すると認められた。